

## 強烈な体験によって些細な出来事が長く記憶される脳の仕組みを解明

### 1. 発表概要

強烈な体験をすると、その前後のささいな出来事の記憶も一緒に長く残ることが多いことが経験上も知られていますが、その脳内の仕組みは明らかされていませんでした。

本学神経科学研究部（痛み脳科学センター兼任）の加藤総夫教授、渡部文子准教授、高橋由香里助教、および、永瀬将志ポスドクドクトラルフェローが協力し、富山大学大学院医学薬学研究部（医学）生化学講座の井ノ口馨教授、および、同講座の野本真順助教らが中心となって進めた研究により、強烈な体験によってささいな出来事が長く記憶される仕組みが解明されました。

井ノ口教授のグループは、マウスを使い、通常ならすぐに忘れてしまうようなささいな出来事でも、その前後に強烈な体験をした場合には、長く記憶として保存される仕組みを解明するため、さまざまな神経科学の解析手法を導入し、それぞれの記憶を思い出す時に活動する神経細胞集団が重複していることを証明しました。この研究成果は、トラウマ記憶と関連性が薄い記憶の不必要な結びつきが起こる PTSD(心的外傷後ストレス障害)などの精神疾患の治療法や、痛みの恐怖が記憶され日常生活を脅かす心因性の慢性痛などの治療法につながることを期待されます。本研究成果は、2016年8月1日 AM10:00(英国時間)に、英国科学誌「Nature Communications」のオンライン速報版で公開されました。

### 1. 研究の概要

例えば、東日本大震災が起こる前のランチで何を食べたかなど、震災前後のささいな出来事を覚えている人が多いことが知られています。実験動物でもそのような現象は報告されていますが、その仕組みは明らかにされていませんでした。

富山大学大学院井ノ口教授を中心とする研究グループは、マウスを用いて、強烈な体験とささいな出来事の記憶エングラム（活動する神経細胞集団）<sup>注1</sup>の重なりが広いことを発見しました。さらに、光遺伝学的手法<sup>注2</sup>によって強烈な体験の記憶エングラムの活動を人為的に抑制したところ、ささいな出来事を思い出せなくなることを発見し、ささいな出来事と強烈な体験の記憶エングラムが重複することで、記憶の連合が成立することを示しました。本学神経科学研究部のチームは、この光遺伝学手法の効果と有効性を脳組織レベルで証明する実験で研究に参加しました。

私たちは、脳に蓄えられているさまざまな記憶情報を関連付けることで、一つ一つの記憶から知識や概念を形成していきます。異なる記憶エングラムが相互作用する仕組みに関する今回の研究成果は、トラウマ記憶と関連性が薄いニュートラルな他の記憶（状況）との間で不必要な結びつきが起きる PTSD などの精神疾患や、痛みの恐怖の記憶が日常生活を脅かす心因性の慢性痛などの治療法につながることを期待できます。

## 2. 研究の背景

記憶は、経験したことが脳の中の特定の神経細胞集団の活動に変換され、蓄えられています。すなわち、経験時に活動した特定の神経細胞集団（記憶痕跡、または記憶エングラムと呼びます）として記憶は符号化され、その記憶エングラムが再び活動するとその記憶が思い出されます（想起）。異なる記憶には異なる記憶エングラムが存在します。

強烈な体験をすると、その前後のささいな出来事も一緒に長期記憶として保存される現象は経験上もよく知られています。このような現象の背景には、異なる記憶をになう異なる記憶エングラムの中に連関が生じる可能性が考えられていましたが、その脳内の実体は解明されていませんでした。

## 3. 研究の内容

本研究ではマウスを用い、弱い学習課題（ささいな出来事）として新奇物体認識課題（NOR）<sup>注3)</sup>、強い課題（強烈な体験）として新規環境暴露（NCE）<sup>注4)</sup>を用いて、両体験の間の記憶の連関が成立する仕組みを調べました。

まず、ささいな出来事だけを体験させ、いつまで記憶が保存されるかを調べました。本研究で用いた NOR の条件では、学習から30分後の短期記憶をテストしたところ、新奇物体を探索した時間の割合が既知物体に比べて大きく、マウスは物体を記憶していました。ところが、学習から24時間後に長期記憶についてテストした場合は、既知物体と新奇物体を探索した時間の割合が同程度であり、マウスは物体を記憶していませんでした。このことから、本研究で用いた NOR で、マウスは学習から30分後では物体を記憶していたものの、24時間後では学習時の物体を忘れていたことが分かりました。

次に、ささいな出来事の前後に強烈な体験を与え、ささいな出来事がいつまで記憶されるかを調べました。NOR を行う前後（3時間前から3時間後までの5時点）で、NCE を行ったところ、NOR の学習を行う前後1時間以内に NCE を行った場合には、24時間後のテストにおいて、マウスは新奇物体を記憶していることが分かりました。NOR と NCE それぞれにおいて活性化されるニューロン集団（記憶エングラム）が一部重なっており、その重なりの大きさが、記憶の連関と関係していることが分かりました。

そこで、光遺伝学の方法を用いて NOR エングラムと NCE エングラムの重なりの関係を調べました。NOR 想起時に、光遺伝学の方法でレーザー照射によって海馬の NCE 記憶エングラムを人為的に抑制すると、長期記憶となった NOR 記憶を思い出せなくなりました。ところが、NCE エングラムとは関係のない別の記憶エングラムを抑制した場合、NOR 記憶は想起できました（下図）。光遺伝学の方法での光刺激が海馬組織中のニューロンをどの程度抑制するのか、という検証実験を本学神経科学研究部（痛み脳科学センター）が担当しました。

以上の結果から、ささいな出来事と強烈な体験の記憶エングラムが重複することで記憶の関連付けが成立することを神経回路レベルで初めて示しました。

## 4. 今後の展開

私たちは既に脳に蓄えられているさまざまな感覚情報を記憶として残していく際に、それらを関連付けていくことで、知識や豊かな生の体験を形成していきます。そのような感

覚体験には、情動に関係するものが多く、初めての景色や初めて場所などの新しい異なる記憶が相互に関連する仕組みに関する今回の研究は、知識や体験を形成する過程でのヒトの高次脳機能の解明につながる成果です。また、関連性の弱い記憶同士の不必要な結びつきは、トラウマ記憶とニュートラルな他の記憶同士の不必要な結びつきが起きる PTSD などの精神疾患に密接に関わっていることから、今回の成果はこれらの疾患の治療法につながることを期待できます。例えば、今後、特定のエングラムの神経活動を制御する技術が開発されれば、強烈なトラウマ記憶のエングラムのみを抑制し、トラウマ記憶に結びついてしまった日常の出来事の記憶を引き離すことも可能となり、将来的には PTSD 治療や心因性の慢性痛の治療にも使えるものと考えています。

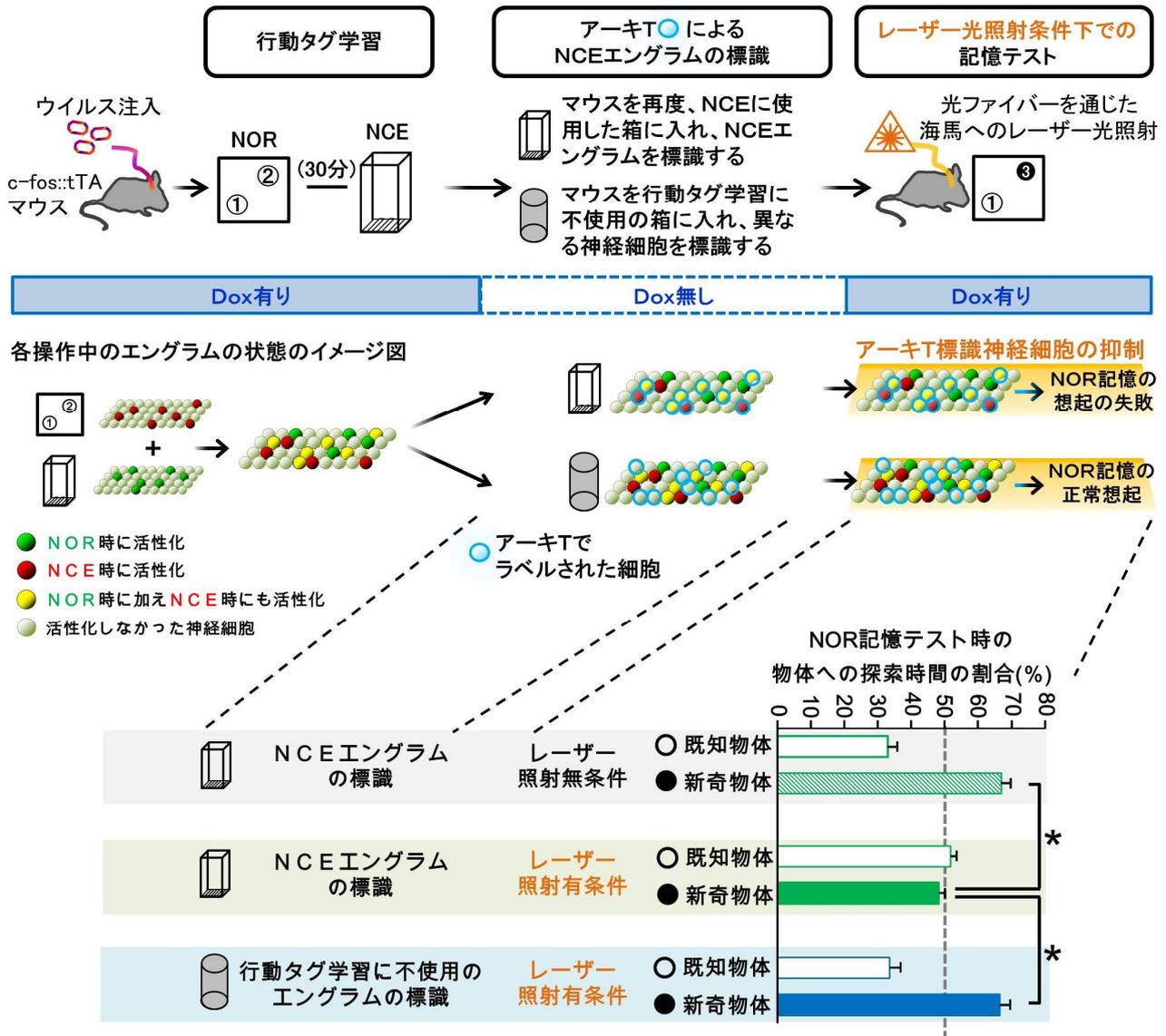
## 5. 特記事項

本研究は、井ノ口 馨富山大学教授を研究代表者とする科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業チーム型研究 (CREST) 研究課題「細胞集団の活動動態解析と回路モデルに基づいた記憶統合プロセスの解明」の支援を受けて富山大学において進められた研究に、文部科学省私立大学戦略的基盤形成支援事業「痛みの苦痛緩和を目指した集学的脳医科学研究拠点の形成」(研究代表者: 加藤総夫 東京慈恵会医科大学 教授) の支援を受けて開設された先端医学推進拠点「痛み脳科学センター」が研究協力することによって達成されました。

## 6. 掲載誌

誌名: 「Nature Communications」(オンライン速報版: 2016 年 8 月 1 日 AM10:00(英国時間))  
論文タイトル: "Cellular tagging as a neural network mechanism for behavioral tagging"

著者: Masanori Nomoto, Noriaki Ohkawa, Hirofumi Nishizono, Jun Yokose, Akinobu Suzuki, Mina Matsuo, Shuhei Tsujimura, Yukari Takahashi\*, Masashi Nagase\*, Ayako M. Watabe\*, Fusao Kato\* & Kaoru Inokuchi (\*, 本学教員)



光遺伝学手法により NCE エングラムを標識し、NOR 想起時に抑制する手順と結果を表している。実際には、c-fos::tTA 遺伝子改変マウス<sup>注5)</sup> と組み換えレンチウイルス遺伝子導入法<sup>注6)</sup> を組み合わせ、海馬の NCE エングラムでアーキTロドプシン<sup>注7)</sup> を発現させ、レーザー照射で NCE エングラムの活動を抑制する。上段：実験の手順を表している。c-fos::tTA マウスの海馬の両側にウイルスが注入された後、標識のための環境暴露、レーザー照射条件下での記憶テストが行われる。NCE エングラムのみをアーキTによって標識するため、学習後に Dox<sup>注8)</sup> の投薬を一時的に中断し、投薬中断中に環境暴露によって活動した神経細胞のみがアーキTによって標識される。中段：各操作中の記憶エングラムの状態のイメージ図を表している。丸：神経細胞、立方体：NCE に使用する箱、円柱：使用していない新しい丸い箱を表している。下段：レーザー照射条件下での NOR 記憶テスト時の結果を表す。想起中に NCE 記憶エングラムを抑制された群は NOR 記憶を想起できない。一方、関連のない箱の記憶エングラムを抑制された群は NOR 記憶を想起できる。

## <用語解説>

### 注1) 記憶エングラム (記憶痕跡)

記憶は、学習時に活動した特定の神経細胞集団 (セルアセンブリ) という形で脳内に残った物理的な痕跡として保存されることが近年明らかになった。この細胞集団が、記憶エングラムである。学習時に同時に活動をした神経細胞同士は強く関係付けられ、何らかのきっかけで一部の神経細胞が活動すると、このセルアセンブリ全体、すなわち、記憶エングラム全体が活動し、その結果として記憶が想起される。

### 注2) 光遺伝学的手法

特定の波長の光を当てると活動する分子を遺伝子導入することで、狙った細胞の活動性や機能を光で制御する方法。光照射によって人為的に標的細胞の神経活動を誘導、抑制できる。

### 注3) 新奇物体認識課題 (NOR)

Novel Object Recognition Task の略。新奇物体認識課題はマウスの新しい物に対する嗜好性や好奇心を利用して行われる。学習として、マウスは2つの異なる物体が対角に置かれた四角い箱の中に5分間入れられ、物体を探索させられる。続いて、テストとして、マウスは2つの異なる既知物体のうちの1つを新奇物体に置き換えた同一の箱の中に再び5分間入れられ、再度、探索させられる。テスト時に、マウスが既知および新奇の物体それぞれに対して興味を示した時間 (鼻先を接触させた時間) を計測する。既知物体に比べて、新奇物体をより長く探索した場合、マウスが物体を記憶していたと判断する。

### 注4) 新規環境暴露 (NCE)

Novel Context Exposure の略。新奇物体認識課題 (NOR) で使用する四角い箱とは色合いや材質が異なる立方体あるいは円柱の箱にマウスを一定時間入れることで行われる。本研究では、マウスは新奇環境暴露として10分間 (トレーニング時) あるいは3分間 (再暴露時) 入れられる。

### 注5) c-fos::tTA 遺伝子改変マウス

活動している神経細胞内に転写因子 tTA を発現する遺伝子改変マウス。c-fos 遺伝子は、神経活動によって発現が誘導されるが、この遺伝子発現に必要なプロモーター配列の後ろに tTA 遺伝子配列をつないだ遺伝子を持つ。tTA はドキシサイクリン (Dox) 非存在下でのみ標的配列である TRE 配列に結合しその下流の遺伝子の発現を誘導することができる。このことから、このマウスを使うと活動した細胞に TRE 配列の下流につないだ蛍光たんぱく質やアーキトロドプシンの遺伝子を発現させることで観察や活性を制御することができる。

### 注6) 組み換えレンチウイルス遺伝子導入法

ヒト免疫不全ウイルスを元に作られたウイルスベクターで、遺伝子改変に利用されている。目的の遺伝子配列を容易にウイルスゲノムに組み込むことができ、結果としてウイル

スが感染した細胞のゲノムに、目的の遺伝子配列を組み込むことができる。いくつかの構成たんぱく質をコードした遺伝子を欠失しているため、感染した細胞内でウイルスが増殖することがなく毒性が低い。

#### 注7) アーキTロドプシン

Archaerhodopsin - T (ArchT、アーキT)。 *Halorubrum* 属のゲノムデータから相同性検索により *Halorubrum* TP009 系統から同定された遺伝子。プロトンポンプを構成する分子。神経細胞にアーキTを発現させると、緑色光依存的にポンプが駆動し、細胞膜電位は過分極を示すため、緑色光照射によって人為的に標的細胞の神経活動を抑制できる。

#### 注11) Dox (ドキシサイクリン)

Dox はテトラサイクリン系抗生物質である。c-fos::tTA 遺伝子改変マウスにおいては、Dox が存在する場合、転写因子 tTA は転写活性を示さず、TRE 配列の下流の目的遺伝子は発現しなくなる。

本研究に関する本学内問い合わせ先

<研究に関して>

総合医科学研究センター・神経科学研究部 教授 加藤総夫

E-mail : fusao@jikei.ac.jp

<広報に関して>

慈恵大学 法人事務局 総務部 広報課 加藤 健

〒105-8461 東京都港区西新橋三丁目25番8号

E-mail : k\_kato@jikei.ac.jp